AUS DER I. MEDIZINISCHEN UNIVERSITÄTSKLINIK DER CHARITÉ
ZU BERLIN

Lane Medical Library

ÜBER DIE WIRKUNG VERSCHIEDENER EISENSALZE AUF DIE BLUTREGENERATION

INAUGURAL-DISSERTATION

ZUR

ERLANGUNG DER MEDIZINISCHEN DOKTORWÜRDE

AN DER

FRIEDRICH-WILHELMS-UNIVERSITÄT

ZU BERLIN

VON

HELMUT PROBST
AUS SULINGEN, PROV. HANNOVER

Tag der Promotion: 5. Sep. 1930

VERLAGSBUCHHANDLUNG JULIUS SPRINGER IN BERLIN. 1930

163

Gedruckt mit Genehmigung
der
Medizinischen Fakultät der Universität Berlin

Dekan: Prof. *v. Friedrich*

Referent: Dr. *Petow*

Korreferent: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. *His*

Sonderdruck aus „Zeitschrift für die gesamte experimentelle Medizin“
Bd. 72, Heft 5/6.

In der 2. Mitteilung [1] zur Frage des aktiven Eisens gelangten zwei von uns *(Petow* und *Kosterlitz)* zusammen mit *Fischgold* zu dem Resultat, daß die „aktiven" Eisenverbindungen nicht den X-Stoff in der Kultur hämophiler Bakterien ersetzen können, wie *Webster* und *Baudisch* ursprünglich angenommen haben. Somit war also eine Stütze für die biologische Aktivität dieser Verbindungen gefallen. Als ein weiterer aussichtsreicher Weg, auf dem man eine etwaige biologische Aktivität aufzeigen könnte, wäre die Wirkung dieser Verbindungen auf die Blutregeneration beim experimentell anämischen Tier zu prüfen.

Moldawski [2] glaubte, bei Verwendung des aktiven Oxydes „Siderac" einen günstigen Verlauf von 11 Kinderanämien konstatieren zu können. *Brodski* [3] fand, daß Verfütterung von „aktivem" und „inaktivem" Eisenoxyd keinen Einfluß auf die Blutwerte des normalen, nicht anämischen Kaninchens hatte.

Lintzel [4] konnte nachweisen, daß bei eisenarm ernährten jungen Ratten das „aktive" Eisenoxyd Siderac einen wesentlich geringeren Einfluß auf die Hämoglobineisen und das Gesamteisen ausübe als auf Eisen bezogene gleiche Mengen Ferrichlorid; sogar bei 12facher Menge Oxyd war die Wirkung des Ferrichlorids noch nicht erreicht. Der Autor führte diesen geringen Effekt auf die schlechte Resorbierbarkeit des Oxyds zurück und lehnte eine biologische Aktivität ab. Zu gleichen Resultaten gelangten *Doan, Sabin* und *Forkner* [5], die die Regeneration der Aderlaßanämie des Kaninchens untersuchten; sie konnten sogar eine Verzögerung der Blutbildung bei Verabreichung von „aktivem", aber auch von „inaktivem" Eisenoxyd konstatieren.

Wir verwandten als „aktives" Präparat das in der 2. Mitteilung erwähnte Ferroferricarbonat von *van Eweyk* und *Tennenbaum* und als „inaktives" das Ferrum reductum der Pharmakopoe. Ein Versuch, dessen Protokolle wir aus Raummangel weglassen, an mit Kohl und Mohrrüben ernährten nichtanämischen Kaninchen, zeigte weder bei den Tieren mit Ferrum reductum noch bei den mit Ferroferricarbonat irgendeinen Effekt.

Um den Verhältnissen in der menschlichen Pathologie näher zu kommen, verwandten wir in der nächsten Versuchsreihe Hunde, die bezüglich ihres Verdauungstraktes eher dem Menschen gleichen als Kaninchen. Außerdem finden sich nicht so häufig sprunghafte Veränderungen der Blutwerte wie bei dem Kaninchen. Zweck dieser Versuchsreihe war die Entscheidung der Fragen, ob 1. die Regeneration nach experimenteller Anämisierung durch „aktive" Eisenverbindungen gefördert wird und 2. welchen Einfluß diese Salze bei fortgesetzter Schädigung der das Gleichgewicht innerhalb der corpusculären Zusammensetzung des Blutes aufrechterhaltenden Organe ausübt. Zur Erzeugung der Anämie diente Toluylendiamin (1:2:4) in subcutaner Injektion; wir zogen diese Methode der Entblutung durch Aderlässe vor, weil sie unseres Erachtens den klinischen Verhältnissen (Anämie bei Infektionskrankheiten, Carcinom usw.) näher kommt, und weil in der Literatur wenig über den Einfluß von Eisen auf diese Art von Anämie bekannt ist.

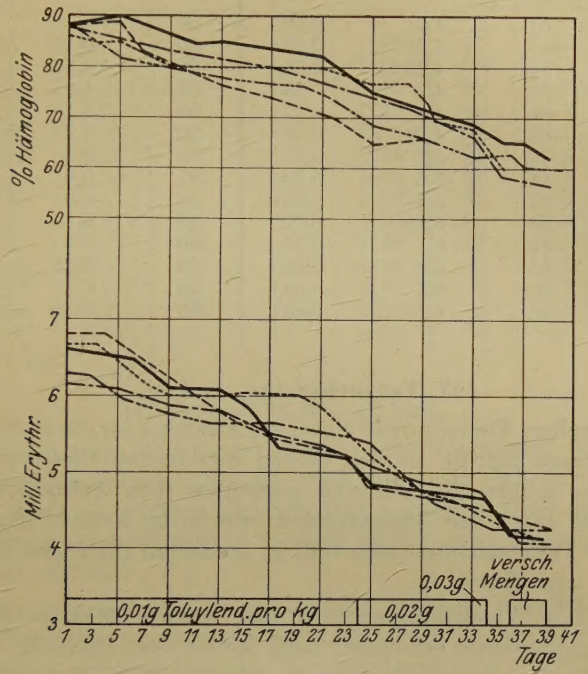
Verwandt wurden 6 ausgewachsene Hunde im Durchschnittsgewicht von 16 kg, die mit einer Standardkost von etwa 5 g Fleisch, 15 g Reis und 3 g Schmalz pro kg und die ernährt wurden. Durch diese Kostform war ein etwa eintretender alimentärer Eisenmangel ausgeschlossen. Leider ging einer der Hunde (2. Kontrolle) im Anfang des Versuches an einer Pneumonie ein, weshalb hierüber keine Protokolle aufgeführt sind. Die Untersuchung geschah nach den üblichen klinischen Methoden: Hämoglobingehalt nach *Sahli*, Erythrocyten in der *Bürker*schen Zählkammer; außerdem wurden stichprobenweise die Erythrocyten mit Substantia granulofilamentosa mit der Supravital-Brillant-Kresylblaumethode gezählt. Auf eine Bestimmung des Blutvolumens glaubten wir bei der konstant bleibenden Kost verzichten zu können.

Der Versuch wurde in der Weise eingeleitet, daß zunächst sämtliche Hunde pro die und kg 0,01 g in physiologischer Kochsalzlösung gelöstes Toluylendiamin subcutan erhielten. Die Dosis wurde, da die Senkung der Blutwerte kaum Fortschritte machte, verdoppelt und schließlich verdreifacht. Bei dieser großen Menge (0,03 g pro kg) trat bei allen Tieren Ikterus und Erbrechen auf. Am nächsten Tage hatten sich die Tiere wieder erholt. Um die Anämisierung möglichst gleichmäßig zu gestalten, geplant war eine Senkung des Hämoglobins um 30%, wurden die Dosen gegen Ende variiert. Auf diese Weise gelang es mit einer Durchschnittsmenge von 5,0 g Toluylendiamin eine Hämoglobin- und Erythrocytenabnahme hervorzubringen, die zwischen 25 und 30% resp. 2,2—3 Millionen lag. Das Körpergewicht blieb annähernd gleich. Über Einzelheiten informiert die beigegebene Kurve 1.

Nach 39 Tagen erhielt eine Gruppe (2 Tiere) neben der Standardkost eine Zulage von „benzidinaktivem" Ferroferricarbonat[1]. Zwei weitere

[1] Das verwandte Präparat enthält nach Mitteilung des Herrn *Tennenbaum* 46,35% Eisen, wovon 76,9% zweiwertig ist.

Tiere erhielten Ferrum reductum, während das 5. Tier als Kontrolltier diente und keine Eisenzulage erhielt. Die Dosierung war pro kg Körpergewicht und Tag 0,01 g der Eisenpräparate, Toluylendiamin wurde abgesetzt.



Kurve 1. —— 1. Hund mit Ferroferricarbonat. – – – 2. Hund mit Ferroferricarbonat. —·—·— 1. Hund mit Ferrum reductum. —··—··— 2. Hund mit Ferrum reductum. ···· Kontrollhund.

Die Gegenüberstellung der Werte bei Beginn und Abschluß der Eisenfütterung gibt folgendes Bild (Tabelle 1 und Kurve 2):

	Bei Beginn der Eisendarreichung:	Nach Abschluß der Eisendarreichung:
Carbonattiere:	1: 57% Hb. 4,25 Mill. E.	91% Hb. 7,0 Mill. E.
	2: 62% „ 4,1 „ „	95% „ 6,9 „ „
Fer. red.-Tiere	1: 60% „ 4,3 „ „	90% „ 6,45 „ „
	2: 58% „ 4,1 „ „	90% „ 6,3 „ „
Kontrolltier	57% „ 4,2 „ „	85% „ 6,25 „ „

Die Zunahme des Blutfarbstoffes beträgt also für die Carbonattiere 34 und 33% Hb, die Fer. red.-Gruppe 30 und 32% Hb., während das Kontrolltier um 28%. zunimmt.

Aus dieser Versuchsreihe läßt sich ein sicherer Schluß weder bezüglich einer Eisenwirkung überhaupt noch viel weniger einer besonderen Wirkung des „benzidinaktiven“ Ferroferricarbonats schließen.

Ta-

Tage seit Beginn der Eisenfütterung	Kontrolltier			1. Tier mit 10 mg Ferrum reductum		
	Hb. %	Mill. Erythr.	F. I.	Hb. %	Erythr.	F. I.
1	57	4,2	0,69	60	4,3	0,7
2	57	4,25	0,67	60	4,35	0,69
4	56	4,25	0,66	62	4,35	0,74
6	56	4,3	0,65	64	4,6	0,69
9	60	4,3	0,72	69	5,1	0,69
11	66	4,95	0,67	70	5,2	0,69
13	72	5,3	0,68	75	5,5	0,68
15	72	5,6	0,64	81	5,9	0,69
17	77	5,8	0,69	86	6,0	0,72
20	86	5,85	0,72	88	6,15	0,68
22	86	6,1	0,7	89	6,3	0,68
24	85	6,2	0,69	89	6,25	0,68
26	85	6,3	0,68	90	6,3	0,71
29	85	6,25	0,68	90	6,45	0,70

II. Versuchsreihe, 1. Teil.

Bei denselben Tieren wurde gleich im Anschluß an die erste Versuchsreihe die Frage geprüft ob den beiden verwandten Eisenverbindungen eine gewisse schützende Wirkung gegenüber dem Toluylendiamin zukommt. Die Dosis der Eisenpräparate wurde im Verlauf des Versuchs erhöht, die Tiere erhielten also 0,01 g, späterhin 0,1 g pro kg und Tag (Tabelle 2 und Kurve 3).

Auch diese Versuchsanordnung läßt keinen sicheren Effekt der beiden Eisenpräparate erkennen; doch hat es den Anschein, als ob das Ferrum reductum und noch mehr das Ferroferricarbonat auf die Blutschädigung durch das Toluylendiamin einen hemmenden Einfluß ausübten. Ähnliches fand *H. Weber* [6] bei der Pyrodinanämie des Hundes.

Ta-

Tage seit Beginn der II. Versuchsreihe I. Teil	Kontrolltier			1. Tier mit Ferrum reductum			2. Tier mit Ferrum reductum		
	Hb. %	Mill. Erythr.	F. I.	Hb. %	Mill. Erythr.	F. I.	Hb. %	Mill. Erythr.	F. I.
1	85	6,25	0,68	90	6,45	0,7	90	6,3	0,72
3	83	6,0	0,69	88	6,25	0,7	89	6,35	0,69
5	74	5,4	0,69	81	5,8	0,7	86	6,1	0,68
7	66	4,7	0,68	74	5,25	0,7	73	5,3	0,68
9	61	4,4	0,7	64	4,75	0,67	69	5,25	0,66
11	57	4,2	0,7	62	4,65	0,69	65	4,7	0,77
14	54	4,0	0,67	61	4,4	0,7	62	4,3	0,72

belle 1.

2. Tier mit 10 mg Ferrum reductum			1. Tier mit 10 mg Ferroferricarbonat			2. Tier mit 10 mg Ferroferricarbonat		
Hb. %	Mill. Erythr.	F. I.	Hb. %	Mill. Erythr.	F. I.	Hb. %	Mill. Erythr.	F. I.
58	4,1	0,72	57	4,25	0,68	62	4,1	0,75
58	4,4	0,66	57	4,25	0,68	62	4,1	0,75
63	4,65	0,67	57	4,35	0,66	61	4,15	0,78
64	4,7	0,68	61	4,55	0,67	61	4,3	0,69
66	4,8	0,67	63	5,0	0,63	68	5,0	0,68
67	4,95	0,67	70	5,4	0,65	74	5,6	0,66
70	5,1	0,69	76	5,8	0,69	81	6,0	0,68
76	5,45	0,7	81	6,45	0,63	85	6,3	0,68
81	5,7	0,71	87	6,55	0,65	87	6,65	0,65
85	6,2	0,72	90	6,9	0,66	92	6,75	0,68
87	6,25	0,7	91	7,0	0,66	93	6,8	0,68
88	6,37	0,7	92	7,0	0,67	94	6,9	0,68
89	6,35	0,7	92	6,95	0,66	94	6,9	0,68
90	6,3	0,71	91	7,0	0,65	95	6,9	0,69

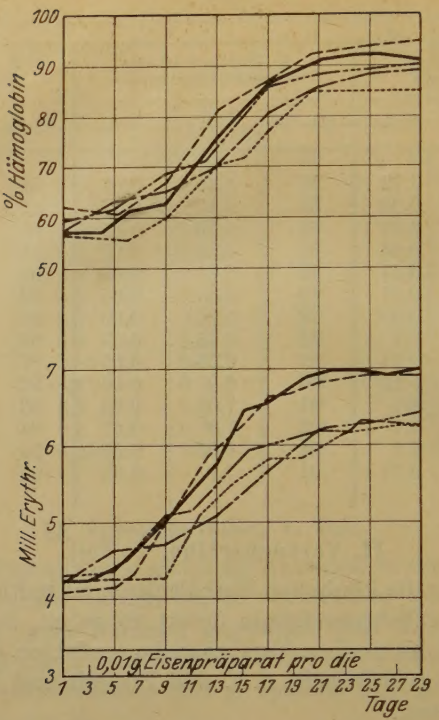
II. Versuchsreihe, 2. Teil.

Um noch mehr die klinischen Verhältnissen zu imitieren, wurde jetzt versucht, dauernd Toluylendiamin derart zu geben, daß das Kontrolltier den am Ende der vorigen Versuchsreihe erreichten Grad der Anämie annähernd konstant beibehält, d. h. daß Blutgift und Regeneration im Gleichgewicht stehen.

Man kann erwarten, daß dann ein jedes Mehr an Regeneration, das durch die Eisenpräparate bedingt ist, deutlich in die Erscheinung tritt. Unseres Wissens ist eine ähnliche Versuchsanordnung nur einmal verwandt worden; *Chistoni* [8] hat 1914 eine derartige Phenylhydrazin-Anämie an Kaninchen erzeugt und auf diese Weise einen starken Effekt von organischen und anorganischen Eisenverbindungen beweisen können.

belle 2.

1. Tier mit Ferroferricarbonat			2. Tier mit Ferroferricarbonat			Bemerkungen
Hb. %	Mill. Erythr.	F. I.	Hb. %	Mill. Erythr.	F. I.	
91	7,0	0,65	95	6,9	0,7	0,02 g Toluylendiamin pro Kilogramm täglich bis auf 2. Tag
90	6,7	0,67	93	6,6	0,7	Bis zum 12. Tage dann 0,01 g
81	6,05	0,67	88	6,2	0,71	Vom 1.—10. Tag 0,01 g Fe-Präparat; dann 0,1 g pro kg und Tag.
73	5,3	0,69	85	6,0	0,7	
66	4,6	0,72	73	5,6	0,65	
65	4,7	0,69	71	5,15	0,69	
65	4,9	0,66	70	5,0	0,7	



Kurve 2. —— 1. Hund mit Ferroferricarbonat. – – – 2. Hund mit Ferroferricarbonat. —·—·—·— 1. Hund mit Ferrum reductum. —·—·—·— 2. Hund mit Ferrum reductum. ···· Kontrollhund.

Ta-

Tage seit Beginn der II. Versuchsreihe 2. Teil	Kontrolltier				1. Hund mit Ferrum reductum			
	Hb. %	Mill. Erythr.	F. I.	Vitalgranul. Erythr. absol. in Tausend	Hb. %	Mill. Erythr.	F. I.	Vitalgranul. Erythr. absol. in Tausend
1	54	4,0	0,68	24	61	4,4	0,7	154
3	52	3,7	0,7		67	4,65	0,7	
5	52	3,75	0,69	15	69	4,8	0,7	72
7	52	3,7	0,7		69	4,9	0,7	
9	53	3,8	0,7	65	69	5,0	0,69	75
10	55	3,9	0,7		73	5,2	0,7	
12	57	4,05	0,7	69	75	5,25	0,72	42
14	57	4,1	0,7		73	5,0	0,73	
16	59	4,2	0,7		71	4,85	0,73	
18	60	4,35	0,69	122	70	4,8	0,73	34
20	62	4,5	0,68		69	4,65	0,74	
22	62	4,6	0,67		69	4,75	0,73	
24	64	4,65	0,69	79	69	4,75	0,73	29

Die Hunde erhielten also in unmittelbarem Anschluß an die vorhergehende Versuchsreihe täglich 0,005 g Toluylendiamin pro kg subcutan und die entsprechenden Eisenpräparate in Dosen von 0,1 g pro kg und die 9 Tage lang; dann wurden, als die Blutwerte einige Tage annähernd konstant waren, die Toluylendiamininjektionen *ohne* gleichzeitige Eisendarreichung fortgesetzt, um die Nachwirkung zu studieren (Tabelle 3 s. unten und Kurve 3 s. S. 724).

Aus diesen Versuchsreihen erkennt man

1. daß es möglich ist, mit kleinen Dosen Toluylendiamin beim Hund eine für eine begrenzte aber genügend lange Zeit konstante Anämie zu erzeugen;

2. daß beide anorganischen Eisenpräparate eine begünstigende Wirkung auf die Blutregeneration ausüben und daß eine Reizwirkung auf das Knochenmark vorliegt, was aus der erheblich erhöhten Anzahl der Erythrocyten mit der Substantia granulo-filamentosa hervorgeht. Eisenmangel ist durch die Versuchsanordnung sicher vermieden worden; denn einerseits ist den Hunden durch die Fleischnahrung reichlich organisches Eisen zugeführt und andererseits ist jede unmittelbare Entziehung von Eisen durch Aderlässe vermieden worden; ja im Gegenteil ist bei den Blutgiftanämien in den Reservedepots das Eisen vermehrt, wie das zuerst von *Tallquist*[7] gefunden worden ist;

3. daß das „benzidinaktive" Ferroferricarbonat stärker als Ferrum reductum wirkt; sowohl die Wirkung während der Darreichung als auch die Nachwirkung ist erheblich stärker. Jedoch ist zu bedenken, daß dieser bessere Effekt nicht notwendigerweise auf die „Aktivität" zurück-

belle 3.

2. Hund mit Ferrum reductum				1. Hund mit Ferroferricarbonat				2. Hund mit Ferroferricarbonat			
Hb. %	Mill. Erythr.	F. I.	Vitalgranul. Erythr. absol. in Taus.	Hb. %	Mill. Erythr.	F. I.	Vitalgranul. Erythr. absol. in Taus.	Hb. %	Mill. Erythr.	F. I.	Vitalgranul. Erythr. absol. in Taus.
62	4,3	0,72	214	65	4,9	0,66	343	70	5,0	0,7	300
65	4,7	0,7		76	5,6	0,68		77	5,55	0,7	
69	4,9	0,69	103	78	5,75	0,68	138	77	5,45	0,71	60
68	4,8	0,7		79	5,8	0,69		81	5,85	0,69	
68	4,7	0,72	168	82	5,9	0,69	189	85	6,0	0,7	150
70	4,75	0,72		83	5,95	0,68		86	6,1	0,7	
68	4,75	0,71	142	84	5,9	0,71	203	87	6,2	0,7	
70	4,8	0,77		84	5,85	0,71		86	6,2	0,69	
68	4,7	0,7		83	5,75	0,72		84	5,8	0,71	
66	4,6	0,72	69	80	5,75	0,7	144	83	5,65	0,73	153
66	4,6	0,72		82	5,8	0,7		83	5,65	0,73	
65	4,5	0,72		81	5,6	0,72		82	5,6	0,73	
65	4,5	0,72	45	81	5,65	0,72	85	82	5,6	0,73	202

zuführen ist, sondern vielleicht auf die bessere Löslichkeit im Magensaft und damit auf die wahrscheinlich leichtere und stärkere Resorbierbarkeit des viel feineren und deswegen eine größere Oberfläche besitzenden Ferroferricarbonats. Damit ist in Übereinstimmung zu bringen, daß nach den Untersuchungen von *Lintzel* [4] und *Doan, Sabin* und *Forkner* [5]

Kurve 3. —— 1. Hund mit Ferroferricarbonat. – – – 2. Hund mit Ferroferricarbonat. —·—·— 1. Hund mit Ferrum reductum. —·—·— 2. Hund mit Ferrum reductum. ···· Kontrollhund.

eine andere schwer resorbierbare „aktive" Eisenverbindung, das *Baudisch*sche Oxyd, keine stärkere, sondern eher eine geringere Wirkung als gewöhnliche Eisenverbindungen auf die Blutregeneration hat. Auch könnte die Komplexität dieser Verbindung eine besondere Rolle spielen.

Zusammenfassung.

1. Durch eine mit kleinen Toluylendiamindosen unterhaltene konstante Anämie des Hundes wird versucht, einen häufig beim Menschen

Anmerkung zur Kurve 3: Anstatt 0,1 g Eisenpräparat soll es 0,01 g und anstatt 1,0 g 0,13 pro kg und Tag heißen.

zu beobachtenden Typ der sekundären Anämie, der durch Infektion, Carcinom usw. hervorgerufen ist, zu imitieren.

2. In drei Versuchsreihen wird gezeigt, daß bei der Toluylendiaminanämie des Hundes trotz reichlich vorhandenen Nahrungseisens Ferrum reductum und „benzidinaktives" Ferroferricarbonat bei sicher vermiedenem Eisenmangel einen anregenden Einfluß auf die Blutregeneration ausüben. In dieser Versuchsanordnung wirkt das Eisen als Reiz auf das Knochenmark.

3. Das „benzidinaktive" Ferroferricarbonat wirkt besser als Ferrum reductum, was aber nicht notwendigerweise auf die „Aktivität" zurückzuführen ist.

4. Darum haben diese wie auch unsere früheren Untersuchungen keinen zwingenden Grund für die Annahme einer „Aktivität" im Sinne *Baudischs* ergeben.

Literaturverzeichnis.

[1] *Petow, H., H. Kosterlitz* u. *H. Fischgold:* Z. exper. Med. **66**, 491 (1929). — [2] *Moldawsky, J.:* Klin. Wschr. **6**, 1998 (1927). — [3] *Brodski:* Zit. nach *A. A. Goldbloom:* Biochem. Z. **192**, 250 (1928). — [4] *Lintzel, W.:* Biochem. Z. **210**, 76 (1929). — [5] *Doan, Sabin* u. *Forkner:* Americ. J. med. Sci. **177**, 201 (1929). — [6] *Weber, H.:* Z. Biol. **70**, N.-F., **52**, 131 (1920). — [7] *Tallquist, T. W.:* Über experimentelle Blutgiftanämien. Helsingfors 1900. — [8] *Chistoni, A.:* Sperimentale **68**, 53 (1914). — [9] *Petow, H.* u. *H. Kosterlitz:* Z. exper. Med. **65**, 807 (1929).

Lebenslauf.

Am 8. Mai 1900 wurde ich zu Sulingen, Provinz Hannover, als Sohn des Oberlandmessers Hermann Probst geboren. Ich besuchte die evangelische Schule zu Braunsberg und später das Realgymnasium zu Potsdam, von dem ich mit der Reife für Oberprima zum Heeresdienst eingezogen wurde. Nach meiner Entlassung aus dem Heeresdienst wendete ich mich nach bestandener Reifeprüfung dem Studium der Medizin zu. Am 15. Februar 1922 und am 21. März 1925 bestand ich die klinische Vorprüfung und das Staatsexamen, beides in Berlin. Am 1. Mai 1926 wurde ich approbiert.